

## TC-1-celler | 305388

## Generel information

## Description

TC-1 er en murin lungeepitelcellelinje transformeret med humant papillomavirus type 16 (HPV16) E6- og E7-onkogener sammen med et aktiveret H-ras-onkogen. Cellelinjen blev udviklet fra primære lungeepitelceller fra C57BL/6-mus ved hjælp af en dobbelt retroviral transduktionsstrategi. Oprindeligt blev en retroviral vektor afledt af Moloney-museleukæmi-virus (MoMLV), såsom pLXSN-16E6E7, anvendt til at levere E6- og E7-onkogenerne. I denne vektor udtrykkes generne fra den virale 5' LTR-promotor, og et neomycinresistensgen (Neo<sup>R</sup>) under kontrol af en intern SV40-promotor muliggjorde selektion med G418. Stabil ekspresion af E6 og E7 resulterer i inaktivering af p53- og Rb-tumorsuppressorveje, hvilket driver celleimmortalisering.

Efter den indledende selektion blev en anden MoMLV-baseret retroviral vektor, der kodede for et aktiveret H-ras (G12V)-gen, introduceret for at fuldføre transformationen. Denne vektor bar en anden selekterbar markør, typisk et hygromycinresistensgen (hph), drevet af en intern promotor såsom SV40 eller PGK. Celler, der overlevede sekventiel selektion med G418 og hygromycin, viste stabil integration af alle tre onkogener, hvilket resulterede i fuldt transformerede og immortaliserede TC-1-celler.

I funktionelle studier udviser TC-1-celler stærk ekspresion af MHC klasse I-molekyler, hvilket gør dem meget immunogene og bredt anvendte til evaluering af eksperimentelle vacciner og immunterapier rettet mod HPV-associerede maligniteter. De har været afgørende i prækliniske vaccineundersøgelser, især dem, der har til formål at fremkalde CD8<sup>+</sup> T-celle-responser mod HPV16 E7. Derudover er der udviklet sublinjer med nedreguleret MHC klasse I-ekspresion for at efterligne immununddragelsesmekanismer, hvilket giver yderligere indsigt i samspillet mellem tumorceller og værtsimmunitet. Disse egenskaber gør TC-1 til en robust og alsidig model for immuno-onkologi og udvikling af HPV-vacciner.

**Organism** Mus

## Karakteristika

**Gender** Uspecificeret

**Ethnicity** Uspecificeret

**Morphology** Epitel-lignende

**Cell type** Epithelial

**Growth properties** Vedhæftende

## Regulatoriske data

**Citation** TC-1 (Cytion katalognummer 305388)

## TC-1-celler | 305388

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4699**GMO Status** GMO-S1: Denne murine lungeepitelcellelinje (TC-1) indeholder HPV16 E6/E7-onkogene leveret via den retrovirale vektor pLXSN16E6E7 sammen med HRAS-onkogene sekvenser, der understøtter stærk transformation. Indsætterne er stabilt integrerede. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 timer**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

## TC-1-celler | 305388

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## TC-1-celler | 305388

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.